Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionsmedizin
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R. Schorer

EINWIRKUNG DES HALOTHANS AUF DEN ENERGIESTOFFWECHSEL DER SKELETTMUSKULATUR UND DER LEBER BEIM LANDSCHWEIN

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard–Karls–Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
MOHAMMED TAFAZZOLI–YAZDI
aus Esfahan/Iran

1979

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548928_0009

Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionsmedizin
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R. Schorer

EINWIRKUNG DES HALOTHANS AUF DEN ENERGIESTOFFWECHSEL DER SKELETTMUSKULATUR UND DER LEBER BEIM LANDSCHWEIN

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard–Karls–Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
MOHAMMED TAFAZZOLI–YAZDI
aus Esfahan/Iran

1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. H.–E. Hoffmeister
Berichterstatter: Privat–Dozent Dr. H. Junger / Professor Dr. W. Heller
(Professor Dr. R. Schorer)

Gedruckt bei Fa. H.–J. Köhler, Reprografischer Betrieb, Neue Straße 11, 7400 Tübingen

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	1
1. Daten zum Krankheitsbild der malignen Hyperthermie beim Menschen	1
2. Einwirkung des Halothans auf den Energiestoffwechsel	4
a) der Skelettmuskulatur	4
b) der Leber	8
B. EXPERIMENTELLER TEIL	13
1. Problemstellung	13
2. Material und Methoden	14
a) Untersuchungsmaterial und Organentnahme	14
b) Histochemische Bestimmungsmethoden	15
c) Statistik	22
C. ERGEBNISSE	24
D. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	44
1. Einwirkung des Halothans auf den Energiestoffwechsel in der Skelettmuskulatur beim Landschwein	45
2. Einwirkung des Halothans auf den Energiestoffwechsel der Leber beim Landschwein	48
E. ZUSAMMENFASSUNG	53
F. LITERATURVERZEICHNIS	54

A. EINLEITUNG

1. Daten zum Krankheitsbild der malignen Hyperthermie beim Menschen

Seit 1966 wird in zunehmendem Maße über das Krankheitsbild der malignen Hyperthermie (m. H.) als eine schwerwiegende Komplikation der Allgemeinnarkose beim Menschen berichtet. Die mit rasch ansteigenden Temperaturen einhergehende Erkrankung wird durch Inhalationsnarkotika wie Halothan, Methoxyfluran, Äther und durch Muskelrelaxantien wie Succinylcholin, Curare und Gallamin ausgelöst.

Ein typisches, klinisches Symptom der m. H. stellt die Muskelrigidität dar. Nach Gabe eines Muskelrelaxans z.B. Succinylcholin kann sie sofort auftreten, bei Allgemeinnarkosen mit den sog. Triggersubstanzen stellt sich der Rigor erst zu einem späteren Zeitpunkt ein. Im Verlauf dieser Narkose erhöhen sich die Herzfrequenz und gleichzeitig der Blutdruck. Eine Tachypnoe bei Spontanatmung, periphere Cyanose, sowie eine starke Erwärmung des Atemkalkes sind als Warnzeichen der m. H. zu berücksichtigen. Hohes Fieber ist als ein Spätsyndrom einzustufen.

Zum vollständigen Erscheinungsbild der m. H. gehören neben einer rigor-mortis-ähnlichen Muskelstarre Rhythmusstörungen, akutes Herzversagen, zunehmende arterielle Untersättigung und periphere Cyanose sowie eine Stoffwechselazidose.

Laborchemisch sind erhöhte Serum-Kaliumwerte, eine Hyperphosphatämie, ein deutlicher Anstieg der Serumphosphokinase, der Aldolase, der Glutamatoxalat-Transaminase und Laktat-Dehydrogenase sowie eine Hypokalcämie nachweisbar.

Die Prognose wird durch die Erkennung der m. H. vor dem Auftreten extrem hoher Körpertemperaturen bestimmt. Die

Mortalität der m. H. wird mit ca. 87,5 % angegeben. Sie wird durch das frühzeitige Erkennen der Primärsymptome sowie von deren Behandlung bestimmt.

Der Entstehungsmechanismus der m. H. ist gegenwärtig nicht eindeutig geklärt. Seit DENBOROUGH (16), der das gehäufte Vorkommen der m. H. in einer Familie nachweisen konnte, gilt heute ein autosomal dominanter Erbgang als gesichert.

Von BRITT, KALOW (8) wird als Ätiologie der m. H. ein erblicher Defekt der kalziumspeichernden Membranen der Herz- und Skelettmuskulatur angenommen. In Gegenwart der sog. Triggersubstanzen und Muskelrelaxantien soll es zu einer Freisetzung des Membran-Calciums ins Zytoplasma und dadurch zu einem gesteigerten Zellstoffwechsel kommen.

Als Zeichen des erhöhten Zellstoffwechsels können die anhaltenden Kontrakturen der Muskelfibrillen, der gesteigerte Sauerstoffverbrauch, die verstärkte Milchsäure-, Kohlendioxyd- und Hitzeproduktion sowie die akute Glykogenumsetzung zu Glucose angesehen werden. Bei diesen Stoffwechselvorgängen wird vermehrt ATP verbraucht. Wegen der Permeabilitätssteigerung an den Muskelzellmembranen fließen die Ionen und Moleküle ihrem normalen Konzentrationsgefälle folgend z.B. Calcium in die Zelle hinein, in den Extrazellulärraum fließen Phosphat, Kalium, Myoglobin, Kreatinin, Phosphokinase, Aldolase, Glutamatoxalat-Transaminase und Laktat-Dehydrogenase.

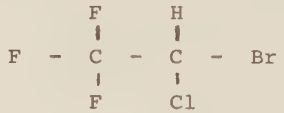
Eine weitere Theorie zur Ätiologie der m. H. entwickelt, daß im Hinblick auf die vorher beschriebenen Zellvorgänge eine Schädigung der Lipoidkomponente der Adenosintriphosphatase oder des Calsequestrins - ein lösliches Protein mit dem Molekulargewicht von 44 000 - durch Halothan z.B. zu einer Erhöhung des zytoplasmatischen Calciums und zu den beobachteten metabolischen Wirkungen führen soll.

JUNGER, SCHMIDT und SCHORER (31) vermuten einen Adenylatkinasemangel in der Skelettmuskulatur, der üblicherweise ausgeglichen werden kann, jedoch bei Einwirkung der bekannten Triggersubstanzen wie Halothan, Penthrane und Ethrane wird eine weitere Verminderung der Restaktivität der Myokinase angenommen, die dann zu der Stoffwechselentgleisung der m. H. führt.

2. Einwirkung des Halothans auf den Energiestoffwechsel

a) der Skelettmuskulatur

Zu Beginn der Ausführungen über den Energiestoffwechsel der Skelettmuskulatur unter Einwirkung von Halothan sollen die allgemeinen Eigenschaften des Halothans nur in den wesentlichen Punkten angeführt werden.
Chemisch stellt Halothan ein
2-Brom-2-chlor-1,1,1-trifluor-äthan mit folgender Formel dar:

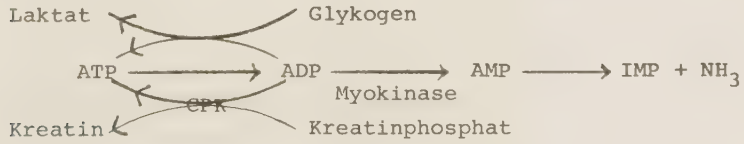


Physikalische Daten:

Aussehen	farblos, klar
Geruch	angenehm, süßlich
Molekulargewicht	197,39
Siedepunkt	50,2° C
Gefrierpunkt	- 118,3° C
Latente Verdampfungswärme beim Siedepunkt	35,2 cal/g
Dampfdruck	243,3 mm Hg bei 20° C
Spezifisches Gewicht	1,87 g bei 20° C
Viskosität	0,353 cP bei 20° C
Löslichkeit im Wasser	0,45 g/100 ml bei 20° C
Löslichkeit im Blut	1,16 g/100 ml bei 37° C
Blut/Gas-Verteilungskoeffizient	2,5 bei 37° C
Luft/Wasser-Verteilungskoeffizient	0,87 bei 23° C
Luft/Blut-Verteilungskoeffizient	0,28 bei 37° C

Die von BRITT und von seinen Mitarbeitern (8, 9) vertretene Hypothese über die Ätiologie der m. H. als ein Defekt der calciumspeichernden Membranen wurde an der Skelett-

muskulatur und Herzmuskulatur aufgestellt. Über die Stoffwechselveränderungen durch Halothan auf die Skelettmuskulatur sei auf die Darlegungen in dem Abschnitt über die Ätiologie der m. H. verwiesen. DENBOROUGH (16) fand beim an einer m. H. erkrankten Landschwein im Vergleich zum normalen Schwein den Calciumaustausch verdoppelt. Die Aufnahme von Ca^{45} vor der Gabe von Halothan war in der Muskulatur bei den Schweinen fast in gleicher Höhe nachzuweisen, während nach der Verabreichung von Halothan die Aufnahme von Ca^{45} auf 57 % gesenkt war. Von BERMAN und KENCH (4) dagegen wurde bei Landschweinen sogar ein Anstieg der Calciumaufnahme durch das Sarkoplasmareticulum dargelegt. Angeblich wurde jedoch dieser Anstieg nicht durch Halothan direkt beeinflußt. Die Autoren beobachteten, daß Halothan in Mitochondrien des Skelettmuskels beim Landschwein mit einer m. H. Wirkungen hervorbringt, ähnlich den Veränderungen am Skelettmuskel der Ratte. Sie wiesen Veränderungen im Sinne eines verringerten Sauerstoffverbrauchs in Anwesenheit der NAD-gebundenen Substrate nach, dagegen einen normalen Sauerstoffverbrauch in Anwesenheit von Succinat. Diese Befunde lassen vermuten, daß die m. H. ihrem Wesen nach anaerob abläuft. In diesen Untersuchungen waren das Muskelglykogen und das Muskelkreatinphosphat verringert. Die Muskel-ATP war nicht vermindert zu Beginn des Muskelrigors, erst beim Übergang in die Totenstarre war ATP erniedrigt; andererseits war das Kreatinphosphat zu Beginn des Rigors stark herabgesetzt, die AMP stieg leicht an. Eine Vermehrung des Inosins war nach Abfall des ATP erheblich. Die Reihenfolge der dargelegten Befunde läßt sich nach BERMAN und KENCH (4) durch Aktivierung eines starken ATP-ase-Systems wie in dem abgebildeten Schema erklären:



ZSIGMOND et al. (59) stellte bei der m. H. neben einer Erhöhung der Serum CPK ein von der Norm abweichendes Enzymmuster der Serum- und Muskel-CPK mit dem sog. BB-Typ fest. In gesunden, menschlichen Geweben werden verschiedene CPK-Isoenzyme nachgewiesen. In der Skelettmuskulatur findet sich vor allem die Polypeptid Kette M erhöht gegenüber der B-Kette; dementsprechend überwiegt in der Stärkeelektrophorese der Skelettmuskulatur der Homodimer MM gegenüber dem Homodimer BB, das im Gehirn vorkommt und gegenüber dem Heterodimer MD. Nach den Untersuchungen von JUNGER (31) zeigte die elektrophoretische Auswertung der CPK bei vier Verwandten von 2 an einer m. H. verstorbenen Kindern keine Besonderheiten, ein Anstieg des BB:MB Quotienten der CPK-Isoenzyme war nicht nachweisbar.

In Ergänzung zu dem von BERMAN und KENCH (4) dargelegten Reaktionsschemas für die Stoffwechselvorgänge bei der m. H. ist das Einwirken der Adenylatkinase auf den Energiestoffwechsel nach dem Reaktionsablauf

$$2\ ADP \underset{\text{Adenylatkinase}}{\rightleftharpoons} ATP + AMP$$

zu klären. JUNGER untersuchte 1974 (31) bei den Eltern und Geschwistern von den 2 an einer m. H. verstorbenen Kindern die Adenylatkinase in der Skelettmuskulatur. Die Studien erbrachten eine auffällige Erniedrigung der Adenylatkinase in der Skelettmuskulatur bei der Mutter und bei der Schwester. Bei dem Vater und dem Bruder wurden normale Werte für die Adenylatkinase gefunden. Nach der Stärkeelektrophorese betrugen die Banden für die Adenylatkinase bei der Mutter und bei der Schwester ca. 10 - 20 % im Vergleich zu den normalen Werten der Adenylatkinase bei dem Vater und dem Bruder. Bei den vier untersuchten Verwandten lag keine Variante der Adenylatkinase in der Skelettmuskulatur, sondern eine eindeutige Erniedrigung der Adenylatkinase vor. In vitro konnten JUNGER und Mitarbeiter(31) eine Aktivitätsminderung der Adenylatkinase von 80 % unter Halothan-

einwirkung an Kaninchenmuskelmyokinase erheben. Nach diesen Ergebnissen ist als Ursache für die m. H. der genetisch bedingte Mangel an muskulärer Adenylatkinase wahrscheinlich. Unter Einwirkung von Halothan kommt es zu einer Verminderung der Restaktivität der Myokinase, die über den Anstieg des intraplasmatischen ADP-Gehaltes zu der Stoffwechselentgleisung der m. H. führt.

Halothan scheint die metabolische Aktivität zu vermindern, die sich in dem gänzlichen Sauerstoffverbrauch widerspiegelt. Nach SEVERINGHAUS und CULLEN (52) und BERGMANN (3) nimmt der Sauerstoffverbrauch unter Halothan bis zu 80 - 85 % des Ausgangswertes beim Menschen ab. Die Mitwirkung von Prämedikation und anderen Medikamenten wie Barbiturate und Muskelrelaxantien auf den herabgesetzten Sauerstoffverbrauch ist untersucht von THEYE und TUOHY (55). Es ist festgestellt, daß der Sauerstoffverbrauch mit der Körpertemperatur korreliert. Muskellähmungen verringern den Sauerstoffverbrauch (84 % des vorgegebenen Basalwertes); Prämedikation mit Pentobarbital und Meperidine und Einleiten der Narkose mit Thiopental verringern ebenfalls den Sauerstoffverbrauch. Es ist anzunehmen, daß die Aktivität der Skelettmuskulatur während der allgemeinen Anästhesie im großen Umfange den allgemeinen Sauerstoffverbrauch bestimmt.

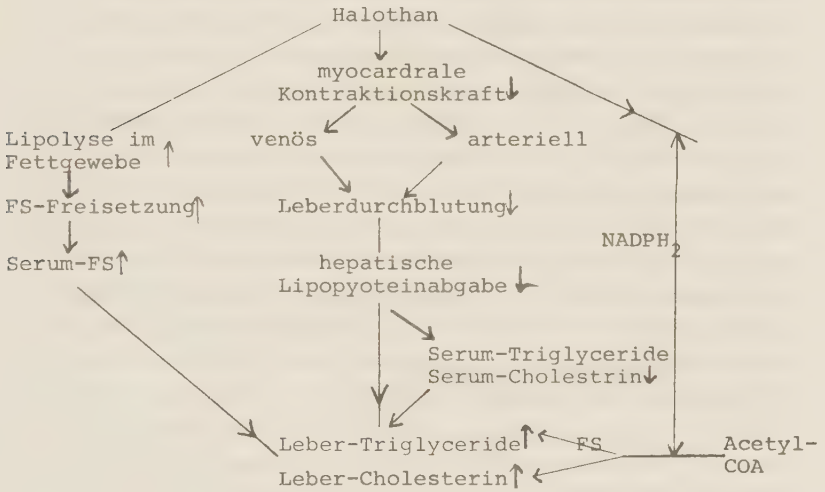
2. Einwirkung des Halothans auf den Energiestoffwechsel

b) der Leber

Vor der klinischen Anwendung des Halothans untersuchte RAVENTOS (48) eingehend die Wirkungen von Halothan auf die Leber. In verschiedenen Tierexperimenten fand sich kein Hinweis für signifikante funktionelle und morphologische Veränderungen nach kurzer oder auch länger dauernder Anwendung von Halothan. Diese Beobachtungen wurden von anderen Forschern bestätigt. In den folgenden Jahren vermittelten klinische Berichte den Verdacht, daß Halothan eine mögliche, postoperative Leberschädigung verursache. "The Committee on Anesthesia of the National Research Council of the United States" veranlaßte einen umfassenden retrospektiven Bericht, "The National Halothane Study", BUNKER et al. (11). Diese und andere Veröffentlichungen stellten fest, daß erhebliche Lebernekrosen nach einer Halothan-Narkose oder mit anderen Anästheticae selten auftreten. Andererseits liegen Beweisstücke vor, daß Halothan wie andere allgemeine Narkosemittel die Leberfunktion beeinflußt. Beim Menschen wurden leichtere und vorübergehende Störungen der Leberfunktion beobachtet. Diese schließen Veränderungen der Serum-Cholinesterase, des Cholesterins, der alkalischen Phosphatase, des Serum-Bilirubins und der Serumaktivitäten wie GOT, GPT und OCT (Ornithincarbamyltransferase) ein. Jedoch verursachen Diäthyläther, Cyclopropan und Lachgas ähnliche Grade der Fehlfunktionen (LITTLE (34)). Somit konnte in kleineren, klinischen Serien eine spezifische, toxische Einwirkung des Halothans nicht demonstriert werden. Vielmehr können auch nicht die Stresswirkung der Allgemeinnarkose und die Operation als Faktoren ausgeschlossen werden. Nur in einem Experiment - die Kalbsleber wurde mit Blut mit einer ziemlich hohen Konzentration von Halothan (3 - 6 %) durchströmt - wurde eine Senkung der Leberfunktion beobachtet (MIDDLETON et al (38)), und zwar fielen der Sauerstoffverbrauch und die

Sulfobromophthaleinexkretion, die Serum-GOT-Aktivität stieg.

Im Vordergrund der Stoffwechselwirkungen von Halothan stehen die Veränderungen im Kohlenhydrat- und im Fettstoffwechsel. In dem Referat über die bisherigen, erörterten Einwirkungen von Halothan auf den Fettstoffwechsel von TESCHKE, OEHMIG (54) ist die folgende Abbildung zu finden.



Das Schema stellt die Wirkung von Halothan auf den Fettstoffwechsel der Leberzelle dar. Unter Einwirkung von Halothan wurde eine Erhöhung der freien Fettsäuren (FS) nachgewiesen. Eine vermehrte Aufnahme von freien Fettsäuren mit nachfolgender Veresterung und Ablagerung der Triglyceride in der Leberzelle ist als Ursache der unter Halothan beobachteten Leberzellverfettung zu diskutieren.

Morphologisch wurden Fettansammlungen und Vakuolenbildungen der Leberzellen bei verschiedenen Tierarten beobachtet, die Halothan ausgesetzt waren. Während Chloroform immer Nekrosen hervorruft, ist Halothan frei von diesem Effekt.

Studien von Ultrastrukturen in der Leberzelle konnten keine direkte toxische Wirkung des Halothans in anästhesiologischen Dosen nachweisen (BLACK (6), BURN et al. (12) und HOECH et al. (25)). Veränderungen sind nur bei höheren Konzentrationen bei der Kalbsleber nachgewiesen worden (MIDDLETON et al. (38)). Morphologische Veränderungen beim Menschen, wenn sie tatsächlich durch Halothan verursacht sind, zeigen ein sehr verschiedenartiges Erscheinungsbild. Es scheint, daß bei allen Kriterien Halothan kein direktes Lebergift ist. Leberveränderungen werden nicht regelmäßig bei Tieren und Menschen verursacht. Trotzdem waren in der "National Halothane Study" viele der ungeklärten Fälle der Lebernekrosen mit einer Halothananästhesie verbunden, oft nach wiederholten Halothanbelastungen. Statistisch konnte das Auftreten nicht signifikant analysiert werden. Die Möglichkeit besteht jedoch, daß in wenigen Fällen Halothan der kausale Faktor der Leberschädigung darstellt. Zwei Fallberichte erörtern die Frage, ob Halothan eine Hepatitis durch Sensibilisierung induzieren kann (BELFRAGE et al. (2), KLATSKIN und KIMBERG (33)).

Das sog. "Sensitizing Drug Syndrome" wurde häufig bei Patienten vermutet, die eine Hepatitis nach einer einzigen oder wiederholten Halothananästhesie zeigten. In diesen Berichten sind mögliche andere Ursachen einer Hepatitis ausgeschlossen worden, und der klinische Verlauf bei diesen Patienten wies auf diese Ätiologie. Wenn dieses Syndrom angenommen wird, ist es erforderlich, daß der Ikterus innerhalb von 21 Tagen nach Einwirken des Anästheticums auftritt (TREY, LIPWORTH, DAVIDSON (56)). 80 % der Patienten, die mit einer "Halothan-Hepatitis" untersucht wurden, waren mehrmals innerhalb einer Zeit von 60 Tagen Halothan ausgesetzt. Das Auftreten mehrmaliger Halothangaben in dem gleichen Zeitraum bei 856 000 Patienten, die in der "National Halothane Study" geprüft wurden, lag bei 9 %. Die Dauer der Anästhesie oder das Ausmaß der Operation beeinflußten nicht die Entwicklung einer Halothan-Hepatitis.

Die meisten Patienten entwickelten die Halothan-Hepatitis nach mehrmaligen, geringfügigeren Eingriffen. Das klinische Syndrom der Halothan-Hepatitis tritt gewöhnlich bei Erwachsenen auf, vorwiegend bei Frauen, meistens nach mehreren Halothanbelastungen. Mit Radioisotopen (REHOER, FORBES, ALTER (50)) ist nachgewiesen, daß Halothan beim Menschen als Trifluoressigsäure und Halogene metabolisiert wird. Diese Stoffwechselprodukte können im Serum und im Urin länger als 21 Tage nach der Narkose persistieren. Einige Wissenschaftler berichten von direkter Leberschädigung und elektronenmikroskopischen Veränderungen, aber in den meisten Berichten ist die Histologie der massiven Lebernekrosen ähnlich der des Hepatitis-Typs. Die Häufigkeit der Halothan-Hepatitis und ihre Mortalität nach massiven Lebernekrosen ist nicht bekannt. Die "National Halothane Study" nimmt eine Morbidität nach mehrmaliger Halothanapplikation mit folgender, massiver Lebernekrose um ca. 7,1 in 10 000 Anästhesien an. Berichte über die Häufigkeit der Mortalität nach einer Halothan Hepatitis variieren von 0 - 1 in 1 000 Narkosen nach mehrmaligen Halothanbelastungen.

Bei der Betrachtung des allgemeinen Stoffwechsels scheint Halothan die metabolische Aktivität zu vermindern. An Leberpräparaten sind unter Halothaneinwirkung Veränderungen des Sauerstoffverbrauchs im Sinne einer Erniedrigung des Sauerstoffverbrauchs ähnlich wie bei untersuchten Herzschnitten festgestellt worden. Nach HOECH et al. (25) hat 1 % Halothan keine Wirkung auf den Sauerstoffverbrauch, jedoch mit 2 % Halothan ist der Sauerstoffverbrauch über 77 % im Vergleich zu Kontrolluntersuchungen erniedrigt. Beim Menschen produziert die Halothananästhesie eine leichte, aber nicht signifikante Erniedrigung des Sauerstoffverbrauchs des Splanchnicus-Gebiets (PRICE et al. (45)). Die arteriovenöse Differenz von Laktat und Pyruvat über der Leber bleibt unverändert (PRICE et al. (45)).

In letzter Zeit wurde die Wirkung von Halothan auf die mitochondriale Funktion und auf den Zellstoffwechsel an verschiedenen Untersuchungen in vitro erforscht. FINK und KENNY (19) und FINK et al. (18) berichteten von Untersuchungen mit Mäusezell-Kulturen, daß Halothan in klinischen Dosen die Sauerstoffaufnahme herabsetzt, das Zellwachstum hemmt, die Glucoseauswertung vermehrt, ebenso wie die Laktatproduktion. Dieselben Effekte sind an Asciteszellen der Maus beobachtet worden, nur sind diese Zellen empfindlicher, bei Konzentrationen von 0,05 - 0,1 % Halothan können Veränderungen beobachtet werden.
An einer Suspension von Lebermitochondrien der Ratte fanden COHEN und MARSHALL (15) bei bestimmten Halothankonzentrationen eine Hemmung des Sauerstoffaufnahmevermögens. Dieser Effekt ist festzustellen bei einer Halothankonzentraktion von 0,7 %, erreicht ein Maximum bei 3 %, worauf das mitochondriale Sauerstoffaufnahmevermögen 25 % im Vergleich zur Kontrolle beträgt. Der Effekt auf die Mitchondriensuspension ist reversibel, bis zu einer Halothankonzentration von 2 Vol. %, bei höheren Konzentrationen wird die Reversibilität zunehmend schlechter. Diese Untersucher folgerten, daß Halothan reversibel die Oxydation des reduzierten Nicotinadenendinucleotids, NADH hemmt. Sie fanden außerdem, daß Halothan auf die mitochondriale Atmungssteuerung einwirkt. Diese Studien auf den cellulären Metabolismus stellen wichtige Fortschritte dar, um die Vorgänge der Anästhesie auf die organischen Funktionen zu verstehen.

B. EXPERIMENTELLER TEIL

1. Problemstellung

Die maligne Hyperthermie stellt beim Menschen eine verhängnisvolle, nicht vorhersehbare Krankheit mit einer Mortalität von 87,5 % dar. Für tierexperimentelle Untersuchungen eignet sich besonders gut das Schwein, da bei einigen Rassen dasselbe Krankheitsbild beobachtet werden kann. Die m. H. ist bei Landschweinen in England und Südafrika, bei Pietrain Schweinen in den Niederlanden und England, möglicherweise auch bei dem Large White Schwein in England wie auch bei Poland China Schweinen gefunden worden, die mit dem Krankheitsbild der m. H. beim Menschen identisch ist.

Zur weiteren Klärung der Stoffwechselabläufe bei der m. H. werden in dieser Studie biochemische Untersuchungsergebnisse an deutschen Landschweinen dargestellt. Es wird über das Verhalten der Metabolitgehalte von AMP, ADP, ATP, Glucose, Fr-1,6-P_2, DAP, NAD, NADP, GAP und CP in der Leber und in der Skelettmuskulatur beim Landschwein vor und nach einer halbstündigen Halothannarkose berichtet.

2. Material und Methoden

a) Untersuchungsmaterial und Organentnahme

Als Versuchstiere dienten 20 Landschweine mit einem Durchschnittsgewicht von 60 - 70 kg.

Nach 12-stündiger Nahrungs- und Flüssigkeitskarenz operierten wir jeweils nachmittags 2 Tiere. Eine Viertelstunde vor dem Eingriff erhielten die Schweine 0,5 mg Atropin und 5 ml Stresnil tief intramuskulär in die Glutäalmuskulatur. Über eine dicklumige Braunüle, in eine Ohrvene eingelegt, verabreichten wir dem Schwein 3 - 5 mg/kg Ketanest, zusätzlich wurden dem Tier über eine selbst angefertigte Maske - die Hälfte eines Beatmungsbeutels wurde auf die Schnauze und die Nase des Versuchstieres angepaßt - 2 l/min Sauerstoff und 3 l/min Lachgas zugeführt. Während der Narkoseeinleitung wurde die rechte Oberbauchseite des Schweins rasiert und steril abgedeckt. Nach einem Rippenbogenrandschnitt rechts, ca. 20 cm lang, und nach Eröffnen der Faszie entnahmen wir vom M. obliquus abdominalis internus und vom M. rectus abdominis eine Muskelbiopsie. Nach Eröffnen des Peritoneums und nach Darstellung der Leber führten wir eine Leberbiopsie durch. Anschließend wurden die Wundflächen mit atraumatischen Catcut-Nähten adaptiert. Kurz nach der Leberbiopsie erhielt das Versuchstier Halothan in einer Konzentration von 1 - 1,5 Vol. %. Nach 30-minütiger Gabe der angegebenen Konzentration erfolgte aus der Leber erneut eine Probeexcision. Nach sorgfältiger Lebernaht und lokaler Blutstillung wurde das Peritoneum verschlossen und unter weiterer Halothan-Gabe noch eine Muskelbiopsie aus dem M. rectus abdominis internus entnommen. Verschluß der Faszien und der Bauchdecken.

Das entnommene Gewebsmaterial wurde jeweils sofort nach der Entnahme in flüssigen Stickstoff gegeben. Bis zur weiteren histochemischen Untersuchung verblieb das Unter-

suchungsmaterial im flüssigen Stickstoff. Zur Analyse wurde das Muskel- bzw. Lebermaterial unter Übergießen mit Stickstoff 10 - 20 Minuten zermörsert und anschließend sofort den einzelnen Bestimmungsmethoden zugeführt und weiterverarbeitet.

b) Histochemische Bestimmungsmethoden

Bestimmung von ATP (Th. Bücher 1947)

Testprinzip:

3-Phosphoglycerinsäure + ATP $\xrightarrow{PGK}$ 3-Phosphoglycerinsäure-1-phophat + ADP (1)

3-Phosphoglycerinsäure-1-phosphat + NADH + H^+ $\xrightarrow{GAPDH}$ GAP + NAD (2)

GAP $\rightleftharpoons$ DAP (3)

DAP + NADH + H^+ $\xrightarrow{GDH}$ L-3-Glycerol + NAD^+ (4)

Bestimmt wird die Extinktionsabnahme von NADH.

Lösung 1: 0,5 mol/l Triäthalnolaminpuffer, pH 7,6;
4 mmol/l Magnesiumsulfat, 6 mmol/l Glycerat-3-phosphat

Lösung 2: 2,5 mmol/l NADH

Suspension 3: GAPDH $\geq$ 300 U/ml; PGK $\geq$ 500 U/ml,
GDH $\geq$ 80 U/ml, TIM $\geq$ 1000 U/ml

0,5 g Gewebe werden in 2 ml Perchlorsäure (eiskalt, ca. 0,6 N) gebracht, gut gemischt, dann 10 min. bei 20 - 25° C stehengelassen, anschließend 10 min. zentrifugiert bei ca.

3000 U/min. Überstand sofort vom Niederschlag abgießen. 2,0 ml Lös. 1, 0,20 ml Lös. 2 und 0,20 ml Überstand nach der Entweißung werden in eine Glaskuvette (1 cm Schichtdicke) pipettiert und mit einem Plastikspatel vermischt. Messung der Extinktion gegen Luft bei λ = 366 nm. Zugabe der Suspension 3 und nach Stillstand der Reaktion Messung der Extinktion E_2.

Berechnung: $E = E_1 - E_2$; c = 4,51. E(mg/g FG).

Durch Division mit dem Molekulargewicht 507,2 erhält man den Metabolitgehalt (mmol/g FG).

Bestimmung von Glucose (W. Werner et al. 1970)

Testprinzip:

$$\text{ß-D-Glucose} + H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{GOD}} \text{D-Gluconsäure} + H_2O_2 \qquad (1)$$

$$H_2O_2 + \text{ABTS(red.)} \xrightarrow{\text{POD}} H_2O + \text{ABTS(ox.)} \qquad (2)$$

Gemessen wird die Extinktionsabnahme von ADTS. ABTS ist ein Redoxindikator.

Reagenzien:

I. 9,1 mg/100 ml Glucose

II. 100 mmol/l Phosphat-Puffer bei pH 7,0
POD $\triangleq$ 0,8 U/ml, GOD $\triangleq$ 10/Uml, ABTS 1,0 mg/ml.

0,1 g Gewebepulver werden in 1,0 ml eiskalte Perchlorsäure gegeben, gemischt und 10 min. bei 5000 U/min. zentrifugiert. Anschließend wird in folgender Reihenfolge pipettiert.

a) Leerwert: 0,1 ml bidest. Wasser und 5,0 ml Lös. 2
b) Standard: 0,1 ml Lös. 1 und 5,0 ml Lös. 2
c) Probe: 0,1 ml Überstand und 5,0 ml Lös. 2

Man mischt gut und läßt bei 20 - 25° C 25 - 50 min. stehen. Direktes Sonnenlicht vermeiden. Messung der Extinktion der Probe (E_p) und Extinktion des Standards (E_S) gegen den Leerwert bei λ = 436 nm.

Berechnung: $c = E_P/E_S$ (mg/g FG).

Durch Division mit dem Molekulargewicht 180.16 erhält man den Metabolitgehalt (mmol/g FG).

Bestimmung von Fructose-1,6-diphosphat, Dihydroxyacetonphosphat und D-Glycerinaldehyd-3-phosphat
(G. Michael und H. O. Beutler 1974)

Prinzip:

$$F\text{-}1,6\text{-}P_2 \xrightarrow{\text{Aldolase}} DAP + GAP \qquad (1)$$

$$GAP \rightleftharpoons DAP \quad (\text{TIM}) \qquad (2)$$

$$DAP + NADH + H^+ \rightleftharpoons L\text{-}(-)\text{-Glycerin-3-P} + NAD^+ \quad (\text{GDH}) \qquad (3)$$

Gemessen wird die mit der Dehydrierung von NADH verbundene Extinktionsabnahme.

Lösungen:

1. Ca. 69 g Kaliumcarbonat mit Wasser ad 100 ml lösen
2. 7,7 ml Perchlorsäure, Dichte = 1,67, mit Wasser ad 150 ml verdünnen (= ca. 6 % w/w $HClO_4$)
3. 18,6 g Triäthanolamin-hydrochlorid in etwa 200 ml Wasser lösen, 18 ml 2 N Natronlauge und 3,7 g EDTA-Na_2H_2.H_2O zufügen; mit Wasser ad 250 ml auffüllen
4. 7 mg NADH-Na_2 mit Lösung 3 ad 1,5 ml lösen
5. Glycerin-3-phosphat-dehydrogenase: ca. 1,0 mg Protein/ml
6. Triosephosphat-Isomerase: ca. 50 g Protein/ml
7. Aldolase: ca. 1,5 mg Protein/ml

8. Kaliumdichromat: 1 g $K_2Cr_2O_7$ mit Wasser ad 100 ml lösen

1 g Gewebehomogenat wird in 5 ml Perchlorsäure (Lös. 2) gegeben und sofort gemischt. In folgender Reihenfolge pipettiert man in 1 cm-Glasküvetten und liest die Extinktion ab:

a) 1,5 ml Lös. 3, 1,5 ml enteiweißte Probe und 0,01 ml NADH-Lösung 4 werden gemischt, auf Raumtemperatur gebracht, und es wird die Anfangsextinktion E_1 bei = 340 nm im Abstand von 3 Min. zwei oder mehrmals abgelesen.

b) Zugabe von 0,01 ml GDH-Suspension 5. Mischen. Nach Ablauf der Reaktion (5 - 7 Min.) Extinktion E_2 im Abstand von 3 Min. mehrmals ablesen. $\Delta E_{DAP} = E_1 - E_2$.

c) Zugabe von 0,01 ml TIM-Suspension 6. Mischen. Nach Ablauf der Reaktion (3 - 5 Min.) Extinktion E_3 im Abstand von 2 Min. mehrmals ablesen. $\Delta E_{GAP} = E_2 - E_3$.

d) Zugabe von 0,01 ml Aldolase Suspension 7. Mischen und nach Ablauf der Reaktion (6 - 9 Min.) Extinktion im Abstand von 3 Min. mehrmals ablesen.
$\Delta E_{Fr\text{-}1,6\text{-}P_2} = E_3 - E_4$.

Berechnung:
DAP: Δ E.0,324 (uM / g F.G.)
GAP: Δ E.0,325 (uM / g F.G.)
$Fr\text{-}1,6\text{-}P_2$: Δ E.0,163 (uM / g F.G.)

Bestimmung von NAD und NADP (Martin Klingenberg)

Die Nicotinamid-Dinucleotide NAD, NADH und Nicotinamid-Dinucleotidphosphate NADP, NADPH finden sich in allen lebenden Zellen. (Die für viele Fragestellungen bereits ausreichende Messung des Gesamtgehaltes NAD + NADH bzw. NADP + NADPH läßt sich vereinfachen, wenn im biologischen Material NADH und NADPH bereits vor der Extraktion zu NAD und NADP oxydiert wird.) Zur Messung des Metabolitstatus von Nicotinamid-Dinucleotiden ist für NAD und NADP

die Herstellung eines sauren Extraktes notwendig.

Lösungen zur Extraktion von NAD und NADP

1. Perchlorsäure (0,6 N)
   5,2 ml $HClO_4$ mit bidest. Wasser ad 100 ml verdünnen.
2. Perchlorsäure (eN)
   26 ml $HClO_4$ mit bidest Wasser ad 100 ml verdünnen.
3. Dikaliumhydrogenphosphat (1M)
   17,4 g K_2HPO_4 mit bidest. Wasser ad 100 ml lösen.

Das Untersuchungsmaterial wird auf ein Gewichtsverhältnis Gewebe : $HClO_4$ durch Zugabe von mehr Gewebe oder $HClO_4$ auf etwa 1 : 5 eingestellt. Zur Entfernung des Proteins 5 Min. bei 3000 bis 5000 U zentrifugieren, 1 ml Überstand abnehmen, dazu unter Eiskühlung 0,2 ml K_2HPO_4-Lös. pipettieren und unter Rühren 3 N KOH zulaufen lassen bis der pH-Wert 7,2 - 7,4 beträgt. $KClO_4$ sedimentieren lassen, vom Überstand Meßproben abpipettieren.

Spektrophotometrische Bestimmungsmethoden: NAD

Prinzip:

1. Äthanol + NAD^+ $\xleftarrow{ADH}$ Acetaldehyd + NADH + H^+

   ADH = Alkohol-Dehydrogenase

Herstellung der Lösungen:

1. Pyrophosphat-Puffer (0,1 M; pH = 8,8)
   4,5 g $Na_4P_2O_7 . 10\ H_2O$ und 0,5 g Semicarbazidhydrochlorid mit bidest. Wasser ad 100 ml lösen.
2. Alkohol-Dehydrogenase ADH (1,2 mg Protein/ml) Stammsuspension mit 3,2 M Ammoniumsulfat-Lösung entsprechend verdünnen.

Bestimmung:
Die Probe - Extrakt S - mit Pyrophosphat-Puffer und Äthanol mischen, die Extinktionsänderung bis zur Konstanz verfolgen und E_1 ablesen. Anschließend mit der ADH-Suspension mischen und nach 6 Min. die Extinktion E_2 ablesen.
$\Delta E = E_2 - E_1$. Bei der Berechnung wird unter anderem die Dichte des Gewebes berücksichtigt, um den Gehalt pro g Frischgewicht zu erhalten.

NADP

Prinzip:

2. Glucose-6-phosphat + $NADP^+$ $\xleftarrow{\text{G6P-DH}}$ 6-Phosphogluconat + $NADPH+H^+$

G6P-DH = Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase

Herstellung der Lösungen:

1. Magnesiumsulfat (1 M)
   2,4 g $MgSO_4.7H_2O$ mit bidest. Wasser ad 10 ml lösen.
2. Glucose-6-Phosphat (ca. 0,2 M G-6-P)
   0,62 g G-6-P-Na_2 mit bidest. Wasser ad 10 ml lösen.
3. Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase, G-6-P-DH (2 mg Protein/ml)
   Stammsuspension mit 3,2 M Ammoniumsulfat-Lösung entsprechend verdünnen.

Bestimmung von Creatinphosphat
(Walther Lamprecht, Philipp Stein, Fritz Heinz und Herwig Weisser)

Als zuverlässiges Verfahren zur Bestimmung von Creatinphosphat in Organaufschlüssen dient die enzymatische Analyse mit Creatinkinase, CK.

Testprinzip:

(1) $CP + ADP \xrightarrow{CK} Creatin + ATP$

(2) $ATP + Glucose \xrightarrow{HK} G\text{-}6\text{-}P + ADP$

(3) $G\text{-}6\text{-}P + NADP^+ + H_2O \xrightarrow{G\text{-}6\text{-}P\text{-}DH} \text{6-Phosphoglucon-säure} + NADPH + H^+$

Pro Mol Creatinphosphat wird 1 Mol NADPH gebildet; Meßgröße ist die bei 334, 340 oder 365 nm gemessene Extinktionszunahme.

Lösungen:

1. Triäthanolamin-Puffer (50 mM; pH = 7,5 - 7,6)
   4,65 g Triäthanolamin-hydrochlorid in 200 ml Wasser lösen, 11 ml 1 N NaOH zufügen, mit Wasser ad 500 ml auffüllen.
2. NADP (ca. 7 mM - NADP)
   7,5 mg NADP-Na_2H mit Wasser ad 1,5 ml lösen.
3. Magnesiumchlorid (0,1 M)
   2,033 $MgCl_2.6H_2O$ mit Wasser ad 100 ml lösen.
4. Glucose (0,5 M)
   9,91 g Glucose ($C_6H_{12}O_6.H_2O$) mit Wasser ad 100 ml lösen.
5. Perchlorsäure (6 % w/w)
   7,8 ml 70proz. Säure oder 7,9 ml 60proz. Säure mit Wasser ad 150 ml verdünnen.
6. Kaliumcarbonat (ca. 5 M)
   72 g K_2CO_3 mit Wasser ad 100 ml lösen.
7. Methylorange-Indikator bzw. Methylrot:
   50 mg Indikatorsubstanz in 100 ml Wasser lösen.
8. Adenosindiphosphat (ca. 22 mM)
   24 mg ADP-Na_2 in 2 ml Wasser lösen.

9. Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (1 mg Protein/ml)
   Stammsuspension gegebenenfalls mit 3,2 M Ammonium-sulfat-Lösung verdünnen.

10. Hexokinase (2 mg Protein/ml)
    Stammsuspension gegebenenfalls mit 3,2 M Ammonium-sulfat-Lösung verdünnen.

11. Creatin-Kinase (5 mg Protein/ml)
    5 mg Lyophilisat in 1 ml Triäthanolamin-Puffer lösen.

Die Probe wird mit dem Reagentien-Mix aus Lös. 1, 2, 3, 8, 9, 4, 10 und Wasser gemischt. Der Reaktionsverlauf sollte möglichst automatisch registriert werden, anderenfalls ca. 25 Min. Extinktionsänderung verfolgen. ATP und G-6-P der Probe reagieren ab. Stillstand der Reaktion abwarten. E_1 ermitteln. Anschließend mit der CK-Lösung mischen, nach 15 Min. die Extinktion E_2 ermitteln. $E_2 - E_1 = \Delta E$. Die durch Zugabe der CK-Lösung verursachte Extinktionsänderung durch erneute Zugabe von 0,01 ml CK-Lösung ermitteln. Die CP-Konzentration ergibt sich nach der Berechnung unter einer Meßstrahlung von 334 nm mit $c = 0{,}492 - \Delta E$.

c) Statistik

Zur statistischen Auswertung der experimentellen Daten wurde der t-Test nach STUDENT und der Zeichen-Rangsummen-Test für gleichartige Paare nach WILCOXAN (Weber 1967) herangezogen. Der t-Test setzt eine Normalverteilung unabhängiger Größen voraus. Es ist zu beachten, daß der zu erwartende Unterschied zwischen den Mittelwerten und die Streuung in den beiden Stichproben nur durch den Einfluß eines einzigen Faktors hervorgerufen wird. In den folgenden Tabellen sind die Mittelwerte der Metabolitgehalte und die mittleren Fehler der Mittelwerte eingezeichnet, außerdem die Signifikanzwahrscheinlichkeit nach dem t-Test

nach STUDENT. Ein signifikanter Unterschied liegt nur dann vor, wenn $P \leq 0{,}05$ ist. Ein Wert für P wird nur angegeben, wenn ein signifikanter Unterschied besteht.

Ergänzend kam der Zeichen-Rangsummen-Test für gleichartige Paare nach WILCOXAN zur Anwendung. Mit dieser statistischen Methode sollen die Wirkungen zweier Behandlungen verglichen werden. Der WILCOXAN-Test arbeitet mit Rangsummen, er berücksichtigt sowohl die relative Größe als auch die Richtung der Differenzen der einzelnen Paare. Die Signifikanzwahrscheinlichkeit nach dem WILCOXAN-Test ist mit P^+ gekennzeichnet.

C. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der Metabolitbestimmungen werden zunächst tabellarisch und anschließend zur deutlicheren Übersicht graphisch dargestellt. Von einem "Metabolitgehalt" soll dann gesprochen werden, wenn der Analysenwert auf das Frischgewicht des betreffenden Gewebes bezogen wird (HOHORST et al. (26)).

Folgende Abkürzungen werden in den Tabellen aufgeführt:

AMP	-	Adenosinmonophosphat
ADP	-	Adenosindiphosphat
ATP	-	Adenosintriphosphat
CP	-	Creatinphosphat
DAP	-	Dihydroxyacetonphosphat
F.	-	Frischgewicht
Fr-1,6-P_2	-	D-Fructose-1,6-diphosphat
GAP	-	D-Glycerinaldehyd-3-phosphat
NADP	-	Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat
$\bar{x}$	-	Mittelwert
$S\bar{x}$	-	mittlere Fehler des Mittelwerts
P	-	Signifikanzwahrscheinlichkeit nach dem t-Test
P^+	-	Signifikanzwahrscheinlichkeit nach dem WILCOXAN-Test

Tabellarische Aufstellung der Metabolitgehalte im Skelettmuskel beim Landschwein:

Tabelle 1:

ADP	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	13,24	14,54
$S\bar{x}$	3,58	4,85
P	-	-
P^+	-	-

Tabelle 2:

ATP	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	201,63	167,84
$S\bar{x}$	19,58	23,28
P	0,05 - signifikant	
P^+	- signifikant	

Tabelle 3:

CP	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	0,52	0,50
$S\bar{x}$	0,28	0,35
P	-	-
P^+	-	-

Tabelle 4:

Glucose	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	63,39	64,39
$S\bar{x}$	91,52	79,49
P	-	-
P^+	-	-

Tabellarische Aufstellung der Metabolitgehalte im Skelettmuskel beim Landschwein:

Tabelle 5:

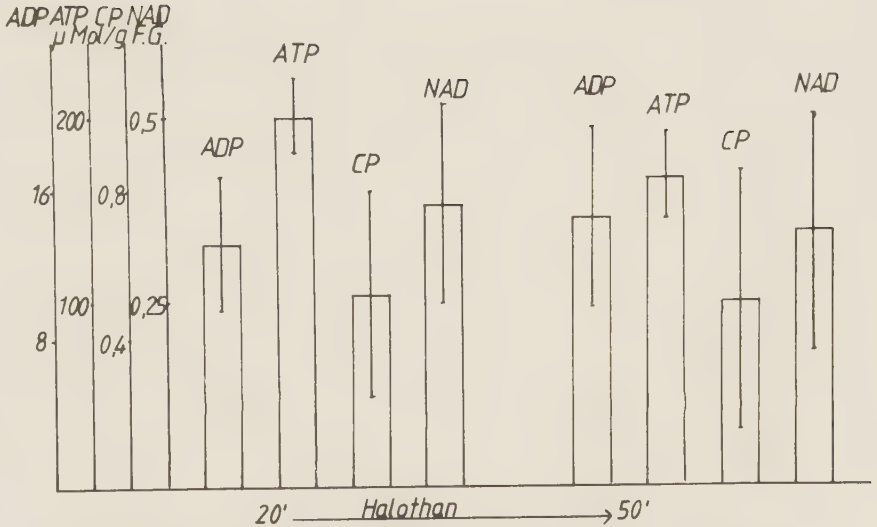
Fr-1,6-P_2	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	52,967	62,936
$S\bar{x}$	43,885	44,365
P	-	-
P^+	-	-

Tabelle 6:

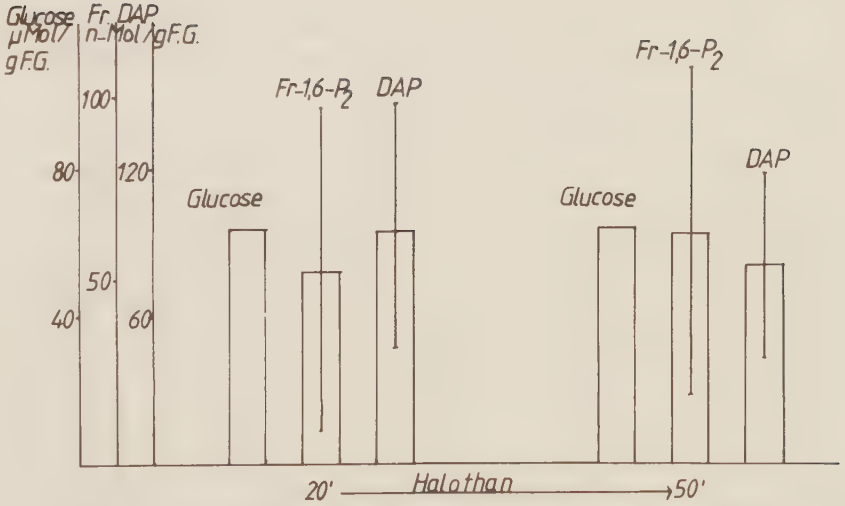
DAP	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	96,412	80,837
$S\bar{x}$	47,455	37,654
P	-	-
P^+	-	-

Tabelle 7:

NAD	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	0,383	0,346
$S\bar{x}$	0,136	0,160
P	-	-
P^+	-	-



Metabolitgehalte von ADP ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), ATP ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), CP ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), NAD ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)
im Skelettmuskel vor und nach Halothan **Abb. 1**



Metabolitgehalte von Glucose ($\bar{x}$), Fr-1,6-P_2 ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), DAP ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) im Skelettmuskel vor und nach Halothan

Abb. II

Tabellarische Aufstellung der Metabolitgehalte in der Leber beim Landschwein:

Tabelle 8:

AMP	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	1,07	0,03
$S\bar{x}$	2,05	0,05
P	= 0,05 - signifikant nach dem t-Test	
P^+	nicht signifikant nach dem WILCOXAN-Test	

Tabelle 9:

ADP	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	14,21	16,80
$S\bar{x}$	7,81	6,62
P	-	-
P^+	-	-

Tabelle 10:

ATP	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	55,55	50,03
$S\bar{x}$	41,16	39,69
P	-	-
P^+	-	-

Tabelle 11:

CP	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	0,202	0,183
$S\bar{x}$	0,517	0,465
P	-	-
P^+	-	-

Tabellarische Aufstellung der Metabolitgehalte in der Leber beim Landschwein:

Tabelle 12:

Glucose	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	237,17	156,55
$S\bar{x}$	196,33	105,07
P	-	-
P^+	-	-

Tabelle 13:

Fr-1,6-P_2	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	26,636	27,853
$S\bar{x}$	13,121	19,359
P	-	-
P^+	-	-

Tabelle 14:

DAP	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	9,078	4,469
$S\bar{x}$	13,128	6,711
P	-	-
P^+	-	-

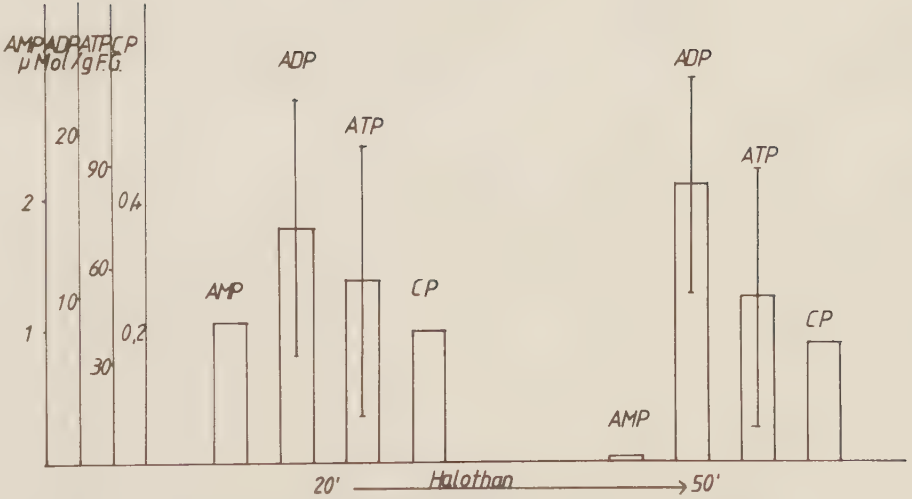
Tabelle 15:

NAD	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	0,326	0,333
$S\bar{x}$	0,081	0,057
P	-	-
P^+	-	-

Tabellarische Aufstellung der Metabolitgehalte in der Leber beim Landschwein:

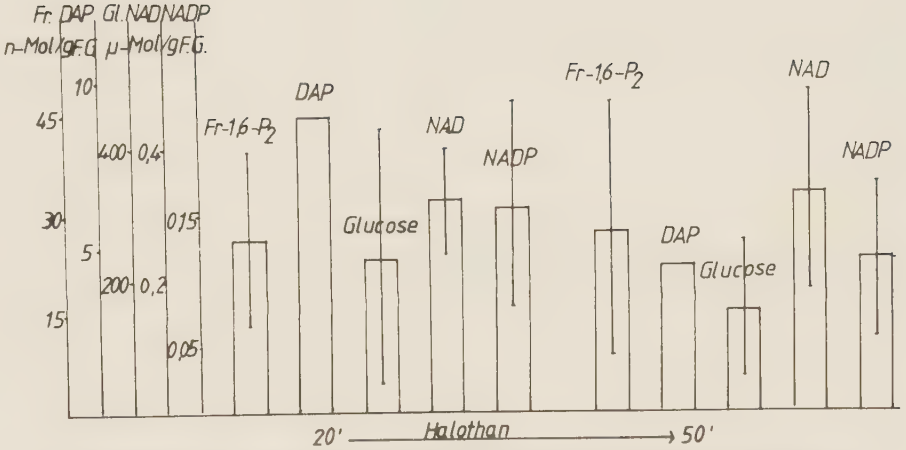
Tabelle 16:

NADP	vor	nach Halothan
$\bar{x}$	0,154	0,113
$S\bar{x}$	0,081	0,057
P	-	-
P^+	-	-



Metabolitgehalte von AMP ($\bar{x}$), ADP ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), ATP ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), CP ($\bar{x}$) in der Leber vor und nach Halothan

Abb. III



Metabolitgehalte von Fr-1,6-P_2 ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), DAP ($\bar{x}$), Glucose ($\bar{x} \pm Sx$), NAD ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), NADP ($\bar{x} \pm Sx$) in der Leber vor und nach Halothan

Abb. IV

Tabelle 17: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Skelettmuskulatur beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
ADP (µMol/g F.)

Nr.	ADP vor	nach Halothan
1	11,9	17,30
2	17,2	16,58
3	12,2	12,3
4	15,4	23,10
5	14,1	20,13
6	11,4	13,3
7	17,50	17,82
8	12,18	5,85
9	6,7	7,14
10	16,80	16,73
11	17,50	18,05
12	13,65	11,41
13	6,48	0

Tabelle 18: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Skelettmuskulatur beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
ATP (µMol/g F.)

Nr.	ATP vor	nach Halothan
1	4,96	4,06
2	2,26	112,75
3	214,45	175,0
4	220,9	171,0
5	169	140,7
6	181,8	137,1
7	234,95	205,2
8	195,7	158,6
9	215,13	171,83
10	189,87	175,89
11	195,28	180,4
12	220,09	191,22
13	223,70	161,46
14	194,83	173,64
15	184,91	194,83
16	182,66	182,95

Tabelle 19: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Skelettmuskulatur beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
Glucose (uMol/g F.)

Nr.	Glucose vor	nach Halothan
1	391,11	351,48
2	111,50	24,82
3	47,14	65,0
4	36,0	69,5
5	26,1	64,9
6	26,6	56,8
7	17,7	20,32
8	11,09	22,36
9	10,10	5,86
10	56,0	59
11	32,24	53,95
12	47,74	61,94
13	72,61	71,95
14	29,62	52,87

Tabelle 20: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Leber beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
ADP (µMol/g F.)

Nr.	ADP vor	nach Halothan
1	2,16	21,70
2	18,66	19,25
3	19,6	19,5
4	4,2	9,1
5	19,6	19,67
6	24,99	25,90
7	20,41	20,16
8	18,94	18,55
9	15,16	14,77
10	6,65	6,79
11	15,23	17,85
12	18,58	19,17
13	21,53	20,30

Tabelle 21: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Leber beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
ATP (µMol/g F.)

Nr.	ATP vor	nach Halothan
1	4,96	5,86
2	12,63	27,06
3	27,96	47,36
4	60,9	75,8
5	56,4	51,9
6	80,3	47,4
7	90,65	60,9
8	55,9	61,8
9	47,36	26,61
10	29,32	48,71
11	52,32	43,30
12	69,0	59,50
13	44,2	55,02
14	42,39	28,86
15	183,0	183,07

Tabelle 22: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Leber beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
Glucose (µMol/g F.)

Nr.	Glucose vor	nach Halothan
1	756	377
2	307,5	46
3	99,5	150,4
4	424,0	261,0
5	79,7	159,05
6	109,12	269,05
7	279,0	171
8	258,22	226,64
9	193,55	122,58
10	119,32	32,88
11	218,48	166,0
12	414,01	131,53

Tabelle 23: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Skelettmuskulatur beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
Fr-1,6-P_2 (nMol/g F.)

Nr.	Fr-1,6-P_2 vor	nach Halothan
1	45,6	52,0
2	56,0	75,6
3	155,18	159,09
4	46,9	44,3
5	88,8	79,1
6	6,56	11,76
7	26,73	45,64
8	5,2	36,0

Tabelle 24: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Skelettmuskulatur beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
DAP (nMol/g F.)

Nr.	DAP vor	nach Halothan
1	69,6	25,6
2	104,0	46,4
3	103,7	88,0
4	106,3	119,2
5	61,6	84,2
6	152,93	142,56
7	72,58	42,77
8	176,3	98,5

Tabelle 25: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Leber beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
Fr-1,6-P_2 (nMol/g F.)

Nr.	Fr-1,6-P_2 vor	nach Halothan
1	37,8	62,6
2	15,2	13,6
3	20,8	25,6
4	18,4	14,4
5	18,4	16,8
6	24,8	22,4
7	18,24	19,6
8	30,0	15,68
9	56,08	60,0

Tabelle 26: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Leber beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
DAP (nMol/g F.)

Nr.	DAP	vor	nach Halothan
1		20,72	12,96
2		18,16	5,20
3		36,32	18,16

Tabelle 27: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Leber beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
NADP (µMol/g F.)

Nr.	NADP	vor	nach Halothan
1		0,20	0,21
2		0,068	0,066
3		0,068	0,084
4		0,12	0,09
5		0,09	0,14
6		0,15	0,14
7		0,17	0,16
8		0,34	0,13
9		0,13	0,11

Tabelle 28: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Skelettmuskulatur beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
CP (µMol/g F.)

Nr.	CP vor	nach Halothan
1	0,26	0,41
2	0,76	0,97
3	0,32	0,27
4	0,34	0,35
5	0,70	0,24
6	0,80	0,90
7	0,15	0,25
8	0,86	1,07

Tabelle 29: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Skelettmuskulatur beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
NAD (µMol/g F.)

Nr.	NAD vor	nach Halothan
1	0,40	0,42
2	0,37	0,36
3	0,49	0,46
4	0,45	0,42
5	0,37	0,39
6	0,50	0,52
7	0,10	0,098

Tabelle 30: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Leber beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
CP (µMol/g F.)

Nr.	CP	vor	nach Halothan
1		0,051	0,037
2		0,049	0,026
3		0,073	0,076
4		0,009	0,035
5		0,016	0,013
6		1,58	1,42

Tabelle 31: Einzelergebnisse der Metabolitgehalte der Leber beim Landschwein vor und nach Einwirken von Halothan
NAD (µMol/g F.)

Nr.	NAD	vor	nach Halothan
1		0,37	0,31
2		0,083	0,093
3		0,080	0,077
4		0,47	0,46
5		0,38	0,36
6		0,45	0,47
7		0,335	0,39

D. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Vorerst sei darauf hingewiesen, daß bei den 20 untersuchten Landschweinen, die während der Untersuchungsanordnung für 30 Minuten Halothan erhielten, keine m. H. beobachtet wurde. Ein Landschwein verstarb während der Applikation von Halothan, es wurden jedoch keine typischen klinischen Zeichen und Laborbefunde erhoben, die für eine m. H. sprechen könnten. Es ist vielmehr anzunehmen, daß das Tier an den Folgen des sog. Stress-Syndroms verstarb.

Die in dieser Arbeit aufgeführten biochemischen Untersuchungsergebnisse lassen im Überblick einen ähnlichen Ablauf der Stoffwechselreaktionen in der Leber und in der Skelettmuskulatur unter der Einwirkung von Halothan erkennen. Um jedoch den organspezifischen Faktoren bei einem veränderten Stoffwechsel gerecht zu werden, sollen die Stoffwechselveränderungen für jedes Organ gesondert besprochen werden.

Im Vergleich zum gesamten Energiestoffwechsel liegen in dieser Arbeit wenige gemessene Werte vor. Auch im Hinblick auf die fehlende Signifikanz für die meisten Daten können die gemessenen Daten keinen Beweis für die Ursache der Stoffwechselveränderungen erbringen, sondern allein einen bestimmten biochemischen Reaktionsablauf stützen.

1. Einwirkung des Halothans auf den Energiestoffwechsel in der Skelettmuskulatur beim Landschwein

Wie in der Tabelle 1 dargestellt, ist der Mittelwert für ADP 30 Minuten nach Gabe von Halothan ($\bar{x}$ = 14,54 µMol/g F.) verglichen mit dem Ausgangswert ($\bar{x}$ = 13,24 µMol/g F.) erhöht, eine Signifikanz liegt jedoch nicht vor. Dagegen ergaben unsere biochemischen Untersuchungen an der Skelettmuskulatur beim Landschwein eine signifikante Erniedrigung des ATP nach einer einmaligen Halothangabe für 30 Minuten. Wie in der Tabelle 2 verdeutlicht, liegt der ATP-Wert nach 30-minütiger Halothaneinwirkung, und zwar der Mittelwert bei $\bar{x}$ = 167,84 µMol/g F. im Vergleich zu dem Ausgangswert für ATP bei $\bar{x}$ = 201,63 µMol/g F. Sowohl nach dem t-Test nach STUDENT als auch nach dem WILCOXAN-Test ist der Mittelwert für ATP nach der Einwirkung von Halothan im Vergleich zum Ausgangswert signifikant erniedrigt. Der Reaktionsablauf

$$ATP + AMP \underset{AK}{\longleftrightarrow} 2\ ADP$$

bestimmt im entscheidenden Ausmaß den Energiestoffwechsel. Diese Reaktion wird durch die ATP:AMP Phosphotransferase katalysiert. COLOWICK (14) schlug für dieses Enzym die Bezeichnung Adenylatkinase vor. Zuvor war für die Adenylatkinase der Name Myokinase gebräuchlich, da dieses Ferment in der Muskulatur isoliert wurde. Inzwischen ist die Adenylatkinase in den verschiedenen Organen nachgewiesen und dargestellt. MARKLAND und WADKINS (35) isolierten 1966 die Adenylatkinase in gereinigten Mitochondrien des Rindes. BRDICZKA et al. (10) demonstrieren 1968, daß die Adenylatkinase in der Leber der Ratte zwischen der äußeren und inneren Membran der Mitochondrien gelegen ist. Es ist anzunehmen, daß die Adenylatkinase die Speicherung und Mobilisierung des Energiestoffwechsels der Adeninnucleotide fördert. Andererseits mag die Adenylatkinase die Erniedrigung des ADP bewirken, um die hemmende Wirkung des ADP auf das Enzymsystem herabzusetzen. Auch

unsere Untersuchungen zeigen die enge Beziehung zwischen ATP und ADP auf. Nach ATKINSON (1) ist das Energiepotential nicht allein an das ATP gebunden, sondern durch die Formel

$$\frac{ATP + 1/2\ ADP}{ATP + ADP + AMP}$$

bestimmt.
Diese Relation ist für das Gleichgewicht von Produktion und Verbrauch von ATP und somit für den Energiestoffwechsel bestimmend.

Das Verhalten der Untersuchungsergebnisse für Creatinphosphat CP in der Skelettmuskulatur bestätigt nicht die Befunde von BERMAN und KENCH (4). Für CP findet sich keine nennenswerte Erniedrigung des Mittelwerts nach der Halothangabe, $\bar{x}$ vor Halothangabe = 0,52 µMol/g F., $\bar{x}$ nach Halothangabe = 0,50 µMol/g F.

Die Tabelle 4 gibt an, daß der Mittelwert für Glucose nach Halothangabe ($\bar{x}$ = 64,39 uMol/g F.) in der Skelettmuskulatur fast unverändert gegenüber dem ersten Wert ($\bar{x}$ = 63,39 uMol/g F.) liegt. Wenn von MORGAN et al. (39), RANDLE und SMITH (47), REGEN et al. (49) bei Sauerstoffmangel, wie er bei erniedrigtem ATP anzunehmen ist, einen beschleunigten Glucosetransport in die Zellen des Zwerchfells und in die des Herzens der Ratte feststellten, so fand sich in unseren biochemischen Untersuchungen an der Skelettmuskulatur beim Landschwein keine wesentliche Verschiebung des intracellulären Glucosegehalts nach Halothaneinwirkung.

Andererseits vermittelt die Tabelle 5, daß für Fr-1,6-P_2 in der Skelettmuskulatur bei der Beurteilung des Mittelwertes ($\bar{x}$ = 52,967 nMol/g F. vor Halothan) ein deutlich erhöhter Wert nach Halothangabe auftritt ($\bar{x}$ = 62,936 mMol/g F.); eine Signifikanz ist jedoch nicht zu erheben.

Entsprechend den Ergebnissen von REGEN et al. (49) kann der ausgeprägte Anstieg für das Fr-1,6-P_2 als Folge der veränderten Glykolyse bei Sauerstoffmangel bewertet werden. Die Erhöhung des Fr-1,6-P_2 könnte durch eine Aktivierung der Phosphorfructokinase (PFK) bei Zunahme von ADP, AMP, Fr-6-P sowie des anorganischen Phosphats bedingt sein (DENTON und RANDLE (17), MANSOR et al. (37), NEWSHOLME und RANDLE (43), REGEN et al. (49)). Die aufgezählten Faktoren beeinflussen sich gegenseitig sehr unterschiedlich auch mit ATP und Citrat, die die Aktivität der PFK hemmen (PASSONEAU und LOWRY (44)).

Die in der Tabelle 6 aufgezeigten Daten für DAP ergeben eine auffällige Erniedrigung des DAP nach Halothan ($\bar{x}$ = 80,837 nMol/g F.) im Vergleich der Mittelwerte zu ihren Ausgangspositionen ($\bar{x}$ = 96,412 nMol/g F.). Die Erniedrigung des DAP in der Skelettmuskulatur beim Landschwein nach Halothaneinwirkung läßt sich dahingehend deuten, daß unter Halothaneinwirkung der Glycerophosphat-Cyclus aktiviert wird. Dieser Reaktionsablauf wurde bei Untersuchungen an der Leber von SCHIMASSEK et al. (51) aufgezeigt. Als mögliche Ursache ist ein Sauerstoffmangel bei einem erniedrigten ATP zu erörtern.

Für den Mittelwert des NAD (Tabelle 7) lassen sich in der Skelettmuskulatur nach Halothangabe leicht erniedrigte Werte nachweisen ($\bar{x}$ vor Halothan = 0,383 µMol/g F., $\bar{x}$ nach Halothan = 0,346 µMol/g F.). Die Autoren COHEN und MARSHALL (15) nehmen an, daß Halothan reversibel die Oxydation des NADH hemmt; in diesem Zusammenhang wäre eine Erniedrigung des NAD denkbar.

2. Einwirkung des Halothans auf den Energiestoffwechsel der Leber beim Landschwein

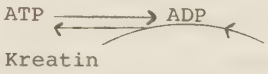
Die Metabolitgehalte der Substrate des Energiestoffwechsels in der Leber zeigen ähnliche Veränderungen der Daten nach Halothaneinwirkung wie der Energiestoffwechsel in der Skelettmuskulatur beim Landschwein.

Nach der Tabelle 8 ist das AMP in der Leber nach Halothangabe ($\bar{x}$ = 0,03 µMol/g F.) auffällig erniedrigt gegenüber dem Ausgangswert mit $\bar{x}$ = 1,07 µMol/g F. nachgewiesen. P beträgt nach dem t-Test nach STUDENT = 0,05, während nach dem WILCOXAN-Test keine Signifikanz vorliegt. Vergleichsweise konnten bei den Auswertungen der Skelettmuskulatur keine Ergebnisse für AMP erhoben werden.

Das ADP (Tabelle 9) ist in der Leber ebenfalls wie in der Skelettmuskulatur im Vergleich der Mittelwerte vor ($\bar{x}$ = 14,21 µMol/g F.) und nach Halothangabe ($\bar{x}$ = 16,80 µMol/g F.) erhöht.

Demgegenüber ist ATP (Tabelle 10) in der Leber nach der Halothangabe zwar erniedrigt ($\bar{x}$ = 50,03 µMol/g F. nach Halothan, $\bar{x}$ = 55,55 µMol/g F. vor der Halothangabe), jedoch ist keine Signifikanz wie vergleichsweise bei der Erniedrigung des ATP nach Halothaneinwirkung in der Skelettmuskulatur gegeben. Nach unseren biochemischen Untersuchungsergebnissen ist eine Steigerung der ADP, eine Herabsetzung der AMP und eine Erniedrigung des ATP in der Leber nach Halothaneinwirkung gegeben. Die Tatsache, daß in diesem Zusammenhang keine signifikante Erniedrigung des ATP in der Leber nachweisbar wird, ist vielleicht in dem Sinne zu bewerten, daß die Leber mit ihren intensiven Zellstoffwechsel über andere Stoffwechselreaktionen im besonderen verfügt, um eine Erschöpfung der Energiereserven zu kompensieren.

Nach der Tabelle 11 ist das CP in der Leber im Gegensatz zu den Untersuchungen an der Skelettmuskulatur nach Halothan erniedrigt ($\bar{x}$ = 0,183 µMol/g F. nach Halothan, $\bar{x}$ = 0,202 µMol/g F. vor Halothan). Es ist zu erörtern, inwieweit dem Energiestoffwechsel in der Leber Reserven an dem CP zur Synthese der ATP vermehrt zur Verfügung stehen, nach der Reaktion vereinfacht dargestellt.



Die Untersuchungsergebnisse für Glucose in der Leber erbringen einen niedrigeren Wert nach der Halothangabe ($\bar{x}$ = 156,55 µMol/g F.) im Vergleich zum Wert vor der Halothangabe mit $\bar{x}$ = 237,17 µMol/g F. Der erniedrigte, intracelluläre Glucose-Gehalt in der Leber nach Halothan könnte im Sinne einer ernsten Stoffwechselsituation für den gesamten Stoffwechsel ausgelegt werden, da die Leber der wichtigste Glucoselieferant des Gesamtorganismus darstellt. Ein Glucosemangel bewirkt unter anderem auch eine Erniedrigung des ATP.

Die Metabolitgehalte für Fr-1,6-P_2 (Tabelle 13) in der Leber ergeben vergleichsweise mit den Ergebnissen in der Skelettmuskulatur nach der Halothangabe einen erhöhten Mittelwert, $\bar{x}$ = 27,853 nMol/g F., im Vergleich zu dem Ausgangsbefund, $\bar{x}$ = 26,636 nMol/g F.

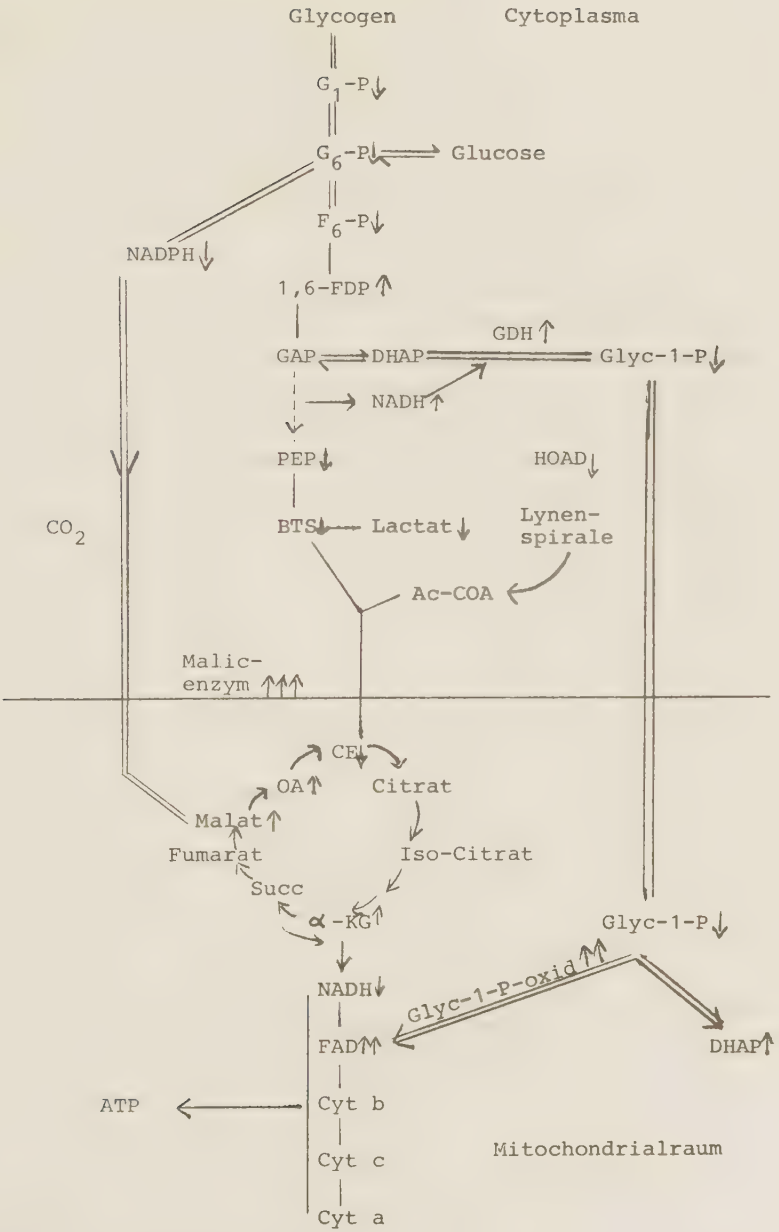
Ebenso liegt eine deutliche Erniedrigung der Daten für DAP (Tabelle 14) nach Halothangabe vor, $\bar{x}$ = 4,469 nMol/g F. nach Halothan, $\bar{x}$ = 0,078 nMol/g F. vor Halothan.

Die Werte für NAD (Tabelle 15) zeigen bei dem Mittelwert kaum unterschiedliche Ergebnisse vor ($\bar{x}$ = 0,326 µMol/g F.) und nach ($\bar{x}$ = 0,333 µMol/g F.) Halothangabe; andererseits ist für NADP (Tabelle 16) ein erniedrigter Mittelwert nach Halothangabe ($\bar{x}$ = 0,113 µMol/g F.) im Vergleich zu

dem Ausgangswert ($\bar{x}$ = 0,154 µMol/g F.) nachzuweisen.

Abschließend sei darauf hingewiesen, daß die Metabolitgehalte für das Fr-1,6-P_2, für das DAP und für das NADP bzw. DAD in der Leber und in der Skelettmuskulatur nach Einwirkung des Halothans gleichsinnige Veränderungen zeigen.

Dementsprechend können die im Abschnitt dargelegten Faktoren für den veränderten Energiestoffwechsel in der Skelettmuskulatur vergleichsweise für die Energiestoffwechsellage in der Leber herangezogen werden. Im besonderen sei auf die Untersuchungsergebnisse von SCHIMASSEK, KUNZ und GALLWITZ (51) über die Einwirkung des Halothans auf die energieliefernden Stoffwechselreaktionen in der Leber hingewiesen. In der folgenden Abbildung sind die energieliefernden Stoffwechselreaktionen dargestellt; die durch Halothan beeinflußten Enzymsysteme sind durch doppelte Tuschelinien hervorgehoben. Experimentell nachgewiesene Änderungen von Enzymaktivitäten und von Metabolitgehalten sind durch Pfeil - Steigerung ↑ , Erniedrigung ↓ - gekennzeichnet.


Glycogen
Cytoplasma
G1-P↓
G6-P↓
Glucose
F6-P↓
NADPH↓
1,6-FDP↑
GDH↑
GAP
DHAP
Glyc-1-P↓
NADH↑
PEP↓
HOAD↓
CO2
BTS↓
Lactat↓
Lynen-spirale
Ac-COA
Malic-enzym ↑↑↑
CE↓
OA↑
Citrat
Malat↑
Fumarat
Iso-Citrat
Succ
α-KG↑
Glyc-1-P↓
NADH↓
Glyc-1-P-oxid ↑↑
FAD↑↑
DHAP↑
ATP
Cyt b
Cyt c
Cyt a
Mitochondrialraum

Nach dieser Abbildung werden unsere Untersuchungsresultate über die Veränderung der Metabolitgehalte in der Leber nach Einwirkung von Halothan bestätigt, und zwar die Erniedrigung der Glucose in der Leber, eine Erniedrigung des DAP, die Erhöhung des Fr-1,6-P_2 und auch die Erniedrigung des NADP in der Leber. Ergänzend zu unseren einzelnen Daten über die Metabolitgehalte des Energiestoffwechsels in der Leber geben die Autoren SCHIMASSEK, KUNZ und GALLWITZ (51) nach ihren weiteren Beobachtungen einen Hinweis über veränderte Reaktionsabläufe unter Halothaneinwirkung in der Leber. Nach ihren Experimenten steigt nach wiederholter Gabe von Halothan die Aktivität der Enzyme des Glycerophosphatcyclus und des Malic-Enzyms in der Leber. Es kann als gesichert gelten, daß eine Hauptfunktion des Glycerophosphat-Cyclus darin liegt, über das Substratpaar Glycerin-1-phosphat / Dihydroxyacetonphosphat den Transport von cytoplasmatischem DPN-H^+ in den Mitochondrialraum zu ermöglichen. Für das Malic-Enzym wird eine gleichsinnige Funktion als "Hilfsenzym des Citrat-Cyclus" postuliert, durch die über das Substratpaar Pyruvat/Malat cytoplasmatische TPN-H^+ in den Mitochondrialraum eingeschleust wird und damit gleichzeitig die Gehalte des für die Citratsynthese erforderlichen Oxalacetat erhöht werden. Die Aktivitätsänderungen dieser beiden Enzymsysteme nach wiederholter Applikation von Halothan sprechen dafür, daß die beiden H^+-liefernden Nebenwege hier deshalb beansprucht werden, weil der Hauptweg der mitochondrialen H^+-Bindung blockiert ist. Ihre uneingeschränkte Funktionsfähigkeit wäre deshalb unter Halothan für eine ausreichende Energielieferung erforderlich. Wenn unter Halothan-Einwirkung ein zusätzlicher Energiebedarf hinzukommt oder durch einen Mangel der Adenylatkinase eine Verschiebung und Erniedrigung der energiereichen Phosphate eintritt, wäre ein Absinken des Energiepotentials denkbar.

E. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser experimentellen Arbeit wurden die Metabolitgehalte des Energiestoffwechsels wie AMP, ADP, ATP, Glucose, Fructose-1,6-diphosphat, NADP, DAP und CP in der Skelettmuskulatur und in der Leber des Landschweins vor und 30 Minuten nach Einwirkung von Halothan gemessen. Die Meßdaten wurden tabellarisch auch unter Berücksichtigung der statistischen Auswertungen und graphisch verglichen.

Nach den einzeln dargestellten Stoffwechselabläufen ist anzunehmen, daß die unter Einwirkung von Halothan ungünstige Situation des Energiestoffwechsels über einen gesteigerten Stoffwechselablauf über den NADP- und über den Glycero-phosphat-Cyclus kompensiert werden kann. Die Ergebnisse lassen erkennen, daß schließlich eine zusätzlich sich einstellende Belastung, wie z.B. bei einem Adenylatkinase-Mangel als pathogenetischer Faktor bei der m. H., eine Dekompensation des Energiestoffwechsels bewirken kann und letztlich den Organismus in seiner Existenz bedroht.

F. LITERATURVERZEICHNIS

(1) ATKINSON, D. E. in GOODWIN, T. W. (ed.): The metabolic roles of citrate (Biochemical Society Symposia No. 27), London and New York: Academic Press 1968

(2) BELFRAGE, S., AHLGREN, I., AXELSON, S.: Halothane hepatitis in an anaesthesist, Lancet 1966 II, 1466 - 1467

(3) BERGMAN, N. A.: Components of the alveolar-arterial oxygen tension difference in anaesthetizes man, Anesthesiology 28, 517 - 527 (1967)

(4) BERMAN, M. C., KENCH, J. E.: Biochemical Features Of Malignant Hyperthermia In Landrace Pigs, In International Symposium on Malignant Hyperthermia (eds. R. A. Gordon, B. A. Britt, W. Kalow), Springfield USA: Charles C. Thomas 287 - 306 (1973)

(5) BERMAN, M. C., HARRISON, G. G., BULL, A. B., KENCH, J. E.: Changes underlying Halothane-induces Malignant Hyperpyrexia in Landrace Pigs, Nature 225, 653 - 655 (1970)

(6) BLACK, G. W.: A review of the pharmacology of halothane, Brit. J. Anaesthesia 37, 688 - 705 (1965)

(7) BRITT, B. A.: Zur Behandlung der malignen Hyperthermie, Anästhesist 21, 201 - 205 (1972)

(8) BRITT, B. A., KALOW, W.: Malignant Hyperthermia: A statistical review, Canda. Anaesth. Soc. J. 17, 293 - 315 (1970)

(9) BRITT, B. A., KALOW, W., ENDRENYI, L.: Effects of halothane and methoxyflurane on rat skeletal muscle mitochondria, Biochemical Pharmacology 21, 1159 - 1169 (1972)

(10) BRDICZKA, D., PETTE, D., BRUNNER, G., MILLER, F.: Eur. J. Biochem. 5, 294 (1968)

(11) BUNKER, J. P., FORREST, W. H., Jr., MOSTELLER, F., VANDAM, L. D.: The National Halothane Study, A study of the possible associaltion between halothane anesthesia and postoperative hepatic necrosis, Bethesda: National Institute of General Medical Sciences 1969

(12) BURN, J. H., EPSTEIN, H. G.: Hypotension due to halothane, Brit. J. Anaesthesia 31, 199 - 204 (1959)

(13) CASCORBI, H. F., BLAKE, D. A., HELRICH, M.: Differences in the biotransformation of halothane in man. Anesthesiology 32, 119 - 123 (1970)

(14) COLOWICK, S. P.: The Enzymes, 1 st ed., Vol 2, Part 1, p. 114 (1957)

(15) COHEN, P. J., MARSHALL, B. E.: Effects of halothane on respiratory control and oxygen consumption of rat livermitochondria, In Toxicity of anesthetics, pp. 24 - 36 (Fink, B. R. Ed.), Baltimore: Williams and Wilkins 1968

(16) DENBOROUGH, M. A. und Mitarbeiter: Anaestetic deaths in a family, Brit. J. Anaesth. 34, 395 - 396 (1962)

(17) DENTON, R. M., RANDLE, P. J.: Citrate and the regulation of adipose tissue phosphofructokinase, Biochem. J. 100, 420 - 423 (1966)

(18) FINK, B. R., KENNY, G. E.: Effects of halothane on cell culture metabolism, in: Toxicity of anesthetics, pp. 37 - 49 (Fink, B. R. Ed.), Baltimore: Williams and Wilkens 1968

(19) FINK, B. R., KENNY, G. E., SIMPSON, W. E., III: Depression of oxygen uptake in cell culture by volatile barbiturates and local anesthetics, Anesthesiology 30, 150 - 155 (1969)

(20) HALDEMANN, G., SCHILLER, H. H.: Muskelbioptische Befunde bei maligner Hyperthermie, in: Bergmann, H. und Blauhut, B.: Maligne Hyperthermie, Akupunktur, Biomedizinische Technik, Abdominelle Intensivtherapie 91, 2 - 68 (1975), Anästhesiologie und Wiederbelebung

(21) HARRISON, G. G.: Althesin and malignant Hyperpyrexia, Brit. J. Anaesth. 45, 1019 - 1021 (1973)

(22) HARRISON, G. G., SAUNDERS, S. J., BIEBUYCK, J. F., HICKMAN, R., DENT, D. M., WEAVER, V., TERBLANCHE, J.: Anaesthetic-induced Malignant Hyperpyrexia and a method for its prediction, Brit. J. Anaesth. 41, 844 - 855 (1969)

(23) VAN DEN HENDE, C., LISTER, D., MUYLLE, E., OOMS, L., OYAERT, W.: Malignant hyperthermia in Belgian landrace pigs rested or exercised before exposure to halothane, Br. J. Anaesth. 48, 821 - 829 (1976)

(24) HOCH, F. L., HOGAN, F. P.: Hyperthermia, muscle rigidity, and uncoupling in skeletal mitochondria in rats treated with halothane and 2,4 dinitrophenol

(25) HOECH, G. P., Jr., MATTEO, R. S., FINK, B. R.: Effect of halothane on oxygen consumption of rat brain, liver and heart and anaerobic glycolysis of rat brain, Anesthesiology 27, 770 - 777 (1966)

(26) HOHORST, H. J., KREUTZ, F. H., BÜCHER, R. T.: Über Metabolitgehalte und Metabolitkonzentrationen in der Leber der Ratte, Biochem. Z. 332, 18 - 46 (1950)

(27) INNES, R. K. R., STRØMME, J. H.: Rise in serum creatine phosphokinase associated with agents used in anaesthesia, Brit. J. Anaesth. 45, 185 - 190 (1973)

(28) ISAACS, H., BARLOW, M. B.: The genetic background to malignant hyperpyrexia revealed by serum creatine phosphokinase estimation in asymptomatic relatives, Brit. J. Anaesth. 42, 1077 - 1084 (1970)

(29) ISAACS, H., FRERE, G., MITCHELL, J.: Histological, histochemical, and ultramicroscopic findings in muscle biopsies from carriers of the trait for malignant hyperpyrexia, Brit. J. Anaesth. 45, 860 - 868 (1973)

(30) JONES, E. W., NELSON, T. E., ANDERSON, I. L., KERR, D. D., BURNAP, T. K.: Malignant Hyperthermie of swine, Anesthesiology 36, 42 - 51 (1972)

(31) JUNGER, H., SCHORER, R.: Adenylatkinase - Defizienz als Ursache der malignen Hyperthermie unter Halothan-Narkose, in: Rügheimer, E. Hrsg., Kongreßbericht, Jahrestagung der DGA vom 2.-5. Oktober 74, perimed Erlangen

(32) KALOW, W.: Bericht über das erste internationale Symposium "Maligne Hyperthermie" in Toronto am 14.-15. Mai 1971, Anästhesist 20, 322 - 323 (1971)

(33) KLATSKIN, G., KIMBERG, D. V.: Recurrent hepatitis attributable to halothane sensitization in an anesthetist. New Engl. J. Med. 280, 515 - 522 (1969)

(34) LITTLE, D. M., Jr.: Effects of halothane on hepatic function, in: Halothane, clinical anesthesia series, pp. 85 - 138 (Greene, N. M. Ed.), Philadelphia: F. A. Davis 1968

(35) LUCKE, J. N., HALL, G. M., LISTER, D.: Porcine malignant Hyperthermia, I. Metabolic and physiological changes, Br. J. Anaest. 48, 297 - 304)1976)

(36) MARKLAND, F. S., WADKINS, C. L.: JBC 241, 4124, 4136 (1966)

(37) MANSOR, T. E., CLAQUE, M. E., BEARNIK, K. D.: Effect of cyclic 3,5-AMP on heart phosphofructokinase, Fed. Proc. 21, 238 (1962)

(38) MIDDLETON, M. D., ROTH, G. J., SMUCKLER, E. A., NYHUS, L. M.: The effect of high concentrations of halothane on the isolated perfused bovine liber, Surg. Gynecol. Obstet. 122, 817 - 825 (1966)

(39) MORGAN, H. E., RANDLE, P. J., REGEN, D. M.: Regulation of glucose uptaken by muscle, 3. The effects of insulin anoxia, salicylate and 2: 4-dinitrophenol on membrane transport and intracellular phosphorylation of glucose in the isolated rat heart, Biochem. J. 73, 573 - 579 (1959)

(40) MOULDS, R. F., DENBOROUGH, M. A.: Biochemical basis of malignant hyperpyrexia, British Medical Journal 2, 241 - 244 (1974)

(41) MOULDS, R. F. W., DENBOROUGH, M. A.: Identification of susceptibility to malignant hyperpyrexia, British Medical Journal 2, 245 - 247 (1974)

(42) NELSON, T. E., JONES, E. W., VENABLE, J. H., KERR, D. D.: Malignant hyperthermia of Poland China swine, Anesthesiology 36, 52 - 56 (1972)

(43) NEWSHOLME, E. A., RANDLE, P. J.: Regulation of glucose uptake by muscle, Effects of fatty acids, ketone bodies, pyruvate, and of alloxan diabetis, starvation, hypophysectomy and adrenalectomy, on the concentrations fo hexose phosphates, nucleotides and inorganic phosphate in the perfused rat heart, Biochem. J. 93, 641 - 651 (1964)

(44) PASSONEAU, J. V., LOWRY, O. H.: Phosphofructokinase and the pasteur effect, Biochem. biophys. Res. Commun. 7, 10 - 15 (1962)

(45) PRICE, H. L., DEUTSCH, S., DAVIDSON, I. A., CLEMENT, A. J., BEHAR, M. G., EPSTEIN, R. M.: Can general anesthetics produce splanchnic viscerla hypoxia by reducing regional blood flow, Anesthesiology 27, 24 - 32 (1966)

(46) PRICE, K. A., MATSUMOTO, Y., FREDERICKSON, E. L.: Effect of halothane on isometric twitch and tetanus response and the associated heat production in striated muscle of frogs, Anesthesia and Analgesia ... Current Researches Vol. 54, Nr. 4, 527 - 535 (1975)

(47) RANDLE, P. J., SMITH, G.: Regulation of glucose uptake by muscle, Biochem. J. 70, 501 - 508 (1958)

(48) RAVENTOS, J.: The action of Fluothane, A new volatile anaesthetic. Brit. J. Pharmacol. 11, 395 - 410 (1956)

(49) REGEN, D. M., DAVIS, W. W., MORGAN, H. E., PARK, C. R.: The regulation of hexokinase and phosphofructokinase activity in heart muscle, J. biol. Chem. 239, 43 - 49 (1964)

(50) REHOER, K., FORBES, G., ALTER, H.: Halothane biotransfusion in man: a quantitative study, Anesthesiology 28, 711 - 715 (1967)

(51) SCHIMASSEK, H., KUNZ, H. W., GALLWITZ, J. H.: Differentiation of liver metabolism on the molecular level during chronic application of Halothan, Biochem. Pharmacol. 15, 1957 - 1961 (1966)

(52) SEVERINGHAUS, J. W., CULLEN, S. C.: Depression of myocardium and body oxygen consumption with Fluothane, Anesthesiology 19, 165 - 177 (1958)

(53) SNODGRASS, P. J., PIRAS, M. M.: The effects of Halothane on rat liver mitochondria, Biochemistry 5, 1140 - 1149 (1966)

(54) TESCHKE, R., OEHMIG, H.: Halothan und Fettstoffwechsel, Anaesthesist 21, 171 - 177 (1972)

(55) THEYE, R. A., TUOHY, G. F.: Oxygen uptake during light halothane anestesia in man, Anesthesiology 24, 627 - 633 (1964)

(56) TREY, C., LIPWORTH, L., DAVIDSON, C. S.: The clinical syndrome of halothane hepatitis, Anest. Analg. Curr. Res. 48, 1033 - 1042 (1969)

(57) TONSA, A., BRÜCKE, H.: Maligne Hyperthermie mit Muskelrigidität in Narkose, Anästhesist 20, 312 - 322 (1971)

(58) WEBER, E.: Grundriß der biologischen Statistik, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 5. Aufl. 1964

(59) ZSIGMOND, E. K., STARKWEATHER, W. H.: Abnormal serum and muscle creatine phosphokinase (CPK) isoenzyme pattern in a family with malignant hyperthermia, Anaesthesist 22, 16 - 22 (1973)

Herrn Professor Dr. med. R. Schorer möchte ich an dieser Stelle danken, daß er mir die Möglichkeit gab, an dem Institut für Anaesthesiologie der Universität Tübingen meine Doktorarbeit anzufertigen.

Besonderen Dank bin ich meinem Doktorvater Herrn Priv. Doz. Dr. H. Junger für seine Anleitungen und Ratschläge schuldig.

Herrn Professor W. Heller bin ich für seine Anregungen zu Dank verpflichtet; auch danke ich seinen Mitarbeitern im Zentrallabor der Chirurgischen Klinik der Universität Tübingen für ihre Durchführung der Analysen und Auswertungen, insbesondere Herrn S. Fischer.

LEBENSLAUF

Am 23. 11. 1933 wurde ich, Mohammed Tafazzoli–Yazdi, als Sohn des Kaufmanns Ahmad Tafazzoli–Yazdi und seiner Ehefrau Soghra in Esfahan/Iran geboren. Nach meinem Schulabschluß im Jahre 1956, im naturwissenschaftlichen Zweig der Oberschule in Esfahan habe ich mein gesamtes Medizinstudium an der Universität Tübingen mit dem Staats–examen zum 16. 8. 1965 absolviert.

Nach zweijähriger Medizinalassistentenzeit erhielt ich die Bestätigung als Arzt zum 15. 9. 1967 vom Innenministerium Baden–Württemberg. Anschließend führte ich meine Facharztweiterbildung in Chirurgie am Krankenhaus Calw, am Kreiskrankenhaus Leer und am Ludmillenstift in Meppen fort und erhielt zum 29. 6. 1973 die Anerkennung als Facharzt für Chirurgie.

Nach meiner chirurgischen Tätigkeit am städtischen Krankenhaus Emden war ich vom 1. 2. 1974 bis zum 31. 12. 1977 am Institut für Anästhesio–logie der Universität Tübingen tätig und habe zum 23. 11. 1977 die Facharztanerkennung für Anästhesiologie und Wiederbelebung erhalten. Seit dem 1. 1. 1978 arbeite ich als Oberarzt auf der Anästhesieabteilung am Stadtkrankenhaus Schwabach und bin seit dem 1. 7. 1978 als Ober–arzt auf der Anästhesieabteilung des Borromäus–Hospitals in Leer tätig.